

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : **2001-010970**

(43)Date of publication of application : **16.01.2001**

(51)Int.Cl.

A61K 35/84

A23L 1/28

A61K 31/00

(21)Application number : **11-188112**

(71)Applicant : **OTA TOMIHISA
KYOWA ENG KK
SUNDORY:KK**

(22)Date of filing : **01.07.1999**

(72)Inventor : **OTA TOMIHISA
SASAKI TAKUMA**

(54) ANTINEOPLASTIC FRACTION FROM AGARICUS BLAZEI MURILL

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a novel medicine or health food which exhibits excellent pharmacological activity and can easily be absorbed by digestive tracts.

SOLUTION: This antineoplastic agent or health food includes a chromatography main elution fraction of molecular weight 100-2,000 obtained by the process for extracting fruit bodies of *Agaricus blazei* Murill with hot water, the process for dialyzing the extract and the process for treating the dialyzed outer solution by chromatography as an active ingredient. The antineoplastic agent or health food is obtained by including a dialyzed outer solution, which is obtained by the process for extracting the fruit bodies with hot water, the process for mixing the extract with ethanol and centrifuging the mixture to divide into a precipitate and a supernatant, the process for mixing the supernatant with ethanol and centrifuging the mixture to divide into a precipitate and a supernatant and then the process for dissolving the precipitate into distilled water to dialyze, as an active ingredient.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

08.09.2003

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2001-10970
(P2001-10970A)

(43) 公開日 平成13年1月16日 (2001.1.16)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テームコード* (参考)
A 6 1 K 35/84		A 6 1 K 35/84	A 4 B 0 1 8
A 2 3 L 1/28		A 2 3 L 1/28	4 C 0 8 8
A 6 1 K 31/00	6 3 5	A 6 1 K 31/00	6 3 5

審査請求 未請求 請求項の数 2 O L (全 3 頁)

(21) 出願番号 特願平11-188112

(22) 出願日 平成11年7月1日 (1999.7.1)

特許法第30条第1項適用申請有り 平成11年6月11日
(有) 三水社発行の「日本薬学会北陸支部第100回記念
例会講演要旨集」に発表

(71) 出願人 599092516

太田 富久

石川県金沢市平和町2-28-60

(71) 出願人 395013968

協和エンジニアリング株式会社

山口県防府市大字新田字中百間町301番地

1

(71) 出願人 398052759

株式会社サンドリー

大阪府堺市中区百舌鳥町6丁964番地

(74) 代理人 100106574

弁理士 岩橋 和幸

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 カワリハラタケの抗腫瘍性画分

(57) 【要約】

【課題】 優れた薬理活性を有し、消化管から吸収され
易い新規な医薬あるは健康食品を提供すること。

【解決手段】 カワリハラタケの子実体を熱水抽出する
工程、抽出物を透析処理する工程および透析外液をクロ
マトグラフィー処理する工程によって得られる分子量1
000~2000のクロマトグラフィー主溶出画分を有効
成分とする抗腫瘍剤もしくは健康食品、およびカワリハ
ラタケの子実体を熱水抽出する工程、抽出物にエタノー
ルを加えて混合し、混合物を遠心分離して沈殿と上澄液
に分ける工程、上澄液にエタノールを加えて混合し、混
合物を遠心分離して沈殿と上澄液に分ける工程および沈
殿物を蒸留水に溶解して透析処理する工程によって得ら
れる透析外液を有効成分とする抗腫瘍剤もしくは健康食
品。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 カワリハラタケの子実体を熱水抽出する工程、抽出液を透析処理する工程、得られる透析外液をクロマトグラフィー処理する工程、得られる分子量100～2000のクロマトグラフィー主溶出画分を有効成分とする抗腫瘍剤もしくは健康食品。

【請求項2】 カワリハラタケの子実体を熱水抽出する工程、抽出物にエタノールを加えて混合し、混合物を遠心分離して沈殿と上澄液に分ける工程、上澄液にエタノールを加えて混合し、混合物を遠心分離して沈殿と上澄液に分ける工程、沈殿物を蒸留水に溶解して透析処理する工程、得られる透析外液を有効成分とする抗腫瘍剤もしくは健康食品。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はカワリハラタケの子実体を熱水抽出処理して得られる比較的低分子量の物質を含有する抗腫瘍剤もしくは健康食品に関する。

【0002】

【従来の技術】カワリハラタケは抗腫瘍活性を有することが知られており、その粉末あるいは種々の抽出物が健康食品として経口的に利用されている。特にカワリハラタケ由来の蛋白多糖体等高分子物質については多数報告されている。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】蛋白多糖体等高分子物質については、一般的には必ずしも消化管からの吸収が良いとはいえない。より低分子物質で優れた薬理活性を有する物質、特に経口的投与が可能な物質は医薬品としても健康食品としても常に求められている。

【0004】

【課題を解決するための手段】抗腫瘍活性成分探索の一環として、マウスへの経口投与に基づく活性試験を検討してきた。その結果、ハラタケ属担子菌 *Agaricus blazei* Murill (カワリハラタケ、協和アガリクス茸) の比較的低分子の熱水抽出画分に抗腫瘍活性を認めたことから、活性成分の分画を行い本発明に至った。

【0005】本発明はカワリハラタケの子実体を熱水抽出する工程、抽出物を透析処理する工程および透析外液をクロマトグラフィー処理する工程によって得られる分子量100～2000のクロマトグラフィー主溶出画分を有効成分とする抗腫瘍剤もしくは健康食品に関する。

【0006】本発明はまた、カワリハラタケの子実体を熱水抽出する工程、抽出物にエタノールを加えて混合し、混合物を遠心分離して沈殿と上澄液に分ける工程、上澄液にエタノールを加えて混合し、混合物を遠心分離して沈殿と上澄液に分ける工程および沈殿物を蒸留水に溶解して透析処理する工程によって得られる透析外液を有効成分とする抗腫瘍剤もしくは健康食品に関する。

【0007】

【発明の実施の形態】以下に本発明の抗腫瘍活性成分の製法について説明する。本発明で用いられるカワリハラタケの子実体は天然物でも人工培養物でも用いるが、市販されている乾燥物も便利に利用できる。カワリハラタケの乾燥子実体に5から10倍の水を加えて1～3時間加熱還流することによって行われる。熱水抽出は熱水抽出残さについてもさらに加熱還流を繰り返して行われる。かくして得られる熱水抽出液を凍結乾燥して、乾燥物(以下乾燥物Aという)を得る。この乾燥物に5～20倍の水を加え、透析チューブに入れ数倍の蒸留水で10～15時間透析し、透析外液を凍結乾燥することによって抗腫瘍活性を有する乾燥物(以下乾燥物Cという)を得ることができる。

【0008】次に、透析内液についてもさらに流水中で20～40時間透析し、蒸留水で2回、各数時間透析した後透析内液を凍結乾燥することによって抗腫瘍活性を有する乾燥物(以下乾燥物Bという)を得ることができる。得られた乾燥物Cを約10倍の蒸留水に溶解し、蒸留水を流出溶媒としてクロマトグラフィーを行い、20mLずつ分取し、多くの画分を得る。得られた画分の中程の主溶出画分で、ゲルろ過法によって分子量100～2000の画分が本発明の高い腫瘍阻害活性を示す画分である。これらの画分はさらにODSを用いる逆相クロマトグラフィー、DEAE-TOYOPEARL650を用いるイオン交換クロマトグラフィーなどに付して分析すると、アルギニン、リジン、マンニトールの他、数種の成分を含んでいることが確認されている。

【0009】また、前記方法で得られる熱水抽出液にエタノールを等量加えて混合し、遠心分離処理して沈殿と上澄液に分ける。得られる上澄液にさらにその1から3倍量のエタノールを加えて混合し、遠心分離処理して得られる沈殿を蒸留水に溶解し、この溶液を透析処理して得られる透析外液は低分子画分で本発明の高い腫瘍阻害活性を示す画分である。かくして得られる高い腫瘍阻害活性を示す画分はそのままあるいは経口医薬剤の製造に用いられる種々の賦形剤と共に医薬剤を製造することができる。また、当該画分はそのまましくは他の食品と共に健康食品として利用することができる。

【0010】

【実施例】実施例1

Agaricus blazei Murill 300 g (協和アガリクス茸) に蒸留水 2 Lを加え、2時間加熱還流を行った。これをろ過してろ液(熱水抽出液)と残渣とに分けた。残渣には再び蒸留水2 Lを加え、2時間加熱還流して熱水抽出を行い、ろ液を得た後、残渣についてもう一度同様の熱水抽出を行い、ろ液を合一した。合一したろ液(熱水抽出液)は凍結乾燥し、乾燥物A 153 g (51%)を得た。乾燥物A 50 gに蒸留水 500 mL加え透析チューブ (Spectra / Por Membrane 50x31, 8mm id x30 m, FE-0526-65) に入れた。これを3 Lの蒸留水に対し、12時間透析をし

た。この透析外液を凍結乾燥して乾燥物C 27g (53%)を得た。透析内液についてはさらに流水中で30時間透析し、その後蒸留水で2回(各4時間、合計8時間)透析した後、透析内液を凍結乾燥し、乾燥物B 11 g (22%)を得た。続いて、乾燥物C 3 gを30 mLの蒸留水に溶かしTOYOPEARL HW40C (40 mm id x 420 mm)を用いるクロマトグラフィーを行った。流出溶媒はすべて蒸留水を用いた。各フラクションについてそれぞれ20 mLずつ分取し、画分1~30を得た。それらのフラクションは薄層クロマトグラフィーを参考にして以下の5群に分けた。重量は次の通りであった。画分1~11 (75 mg, 2.5%)、画分12~15 (920 mg, 30.7%)、画分16~17 (1570 mg, 52.3%)、画分18~19 (270 mg, 9%)、画分20~28 (97 mg, 3.2%)。

赤外線吸収スペクトル(IR) データは以下の通りである。

画分16: IR (KBr) 3390, 3325, 3285, 2940, 2920, 1641, 1634, 1622, 1615, 1600, 1595, 1405, 1394, 1084, 1020.

分子量(ゲルろ過法) 100~2000

【0011】アガリクス熱水抽出成分及び透析画分の抗腫瘍性試験を下記により実施した。

1) 投与サンプル 下記(A)~(D)の1~10 mg/mL濃度水溶液を用いた。

(A) アガリクス熱水抽出エキス(乾燥物A、熱水抽出液の凍結乾燥品)

(B) 高分子画分(前記乾燥物B)

(C) 低分子画分(前記乾燥物C)

(D) 低分子画分(クロマトグラフ画分16)

2) 動物として、ICR/JCL マウス(5週令 雌、6匹/※30

*群) — 6匹 x 3群 x 6種を用いた。

3) 腫瘍細胞株: Sarcoma 180 細胞。37°Cで継代培養した。

(方法)

ICRマウスを用いるin vivo アッセイ(経口投与)

1) マウス片足の皮下に Sarcoma 180細胞を 2-5x10⁶ 0,000 cells/mouseの割合いで移植した。

2) 1~10日の間、薬剤の水溶液を経口投与した。薬剤の濃度は1種類の薬剤につき 10 mg/mL とした。

3) 5週間に渡って半週毎に腫瘍容積の観察を行い、最終日に腫瘍塊を摘出し、重量を測定した。腫瘍容積は腫瘍塊の長径及び短径から換算した。

(結果) 投与サンプルの腫瘍阻害率は以下の通りであった。

(A) 68%、(B) 65%、(C) 71%、(D) 83%

【0012】実施例2

実施例1と同様の熱水抽出を実施して、合一したろ液

(熱水抽出液) 6 Lを得た。このろ液を減圧濃縮して1 L

とし、これにエタノール1 Lを加えて混合し、遠心分離して沈殿と上澄液を得た。この上澄液にさらにエタノール3 Lを加えて混合し、遠心分離して得られる沈殿を蒸留水に溶解し、透析処理した。その透析外液について実施例1と同様に腫瘍増殖阻害率を求めたところ86%であった。

【0013】

【発明の効果】本発明によりカワリハラタケを熱水抽出することによって得られる抗腫瘍性画分を含有する抗腫瘍剤ならびに健康食品が提供される。

フロントページの続き

(72)発明者 太田 富久

石川県金沢市平和町2-28-60

(72)発明者 佐々木 琢磨

石川県金沢市泉野町4-12-5-401

Fターム(参考) 4B018 LE03 MD82 ME08 MF01 MF04 MF06

4C088 AA07 AC16 AC17 BA05 BA23

BA24 CA02 CA14 CA16 MA52

NA11 NA14 ZB26